

Karina Rigaud Cunha

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE GLICERINAÇÃO PARA A CONSERVAÇÃO DE
FRUTOS CARNOSOS**

Brasília
2012

APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE GLICERINAÇÃO PARA A CONSERVAÇÃO DE FRUTOS CARNOSOS

Título Abreviado: Aplicação da técnica de giacomini em frutos

Karina Rigaud Cunha¹, Andrea Libano²

RESUMO

As carpotecas são coleções científicas que tem por finalidade registrar a diversidade de frutos de uma determinada região. Geralmente esses frutos são conservados em vidros com álcool o que leva a despigmentação e a diminuição da vida útil dos mesmos durante a manipulação. A técnica de glicerinação é utilizada por várias instituições de pesquisa como método de conservação de peças anatômicas animais, conferindo-lhes características como coloração, flexibilidade e consistência do tecido como *in vivo*. A fim de buscar um novo método de conservação para os frutos de carpoteca, que aumente sua durabilidade e conserve sua morfologia original, o objetivo dessa pesquisa foi adaptar a técnica de giacomini para tecido vegetal. O melhor fixador encontrado foi a solução de formol glicerinado que possui ação antimicrobiana inibindo a decomposição dos frutos. No entanto é necessário que sejam feitas novas repetições da técnica a fim de se determinar o tempo exato de cada etapa do procedimento, tendo como finalidade a busca por um método de glicerinação adequado para tecido vegetal.

Palavras-Chave: Coleção científica. Tecido vegetal. Glicerinação. Preservação de frutos.

¹ Graduanda em Ciências Biológicas Bacharelado – UniCEUB, e-mail: karina.biologia@gmail.com;

² Prof. Mestre em Ciências Biológicas Bacharelado – UniCEUB, e-mail: andrealibano@yahoo.com.

APPLICATION OF THE GLYCERIN TECHNIQUE IN THE CONSERVATION OF FRUITS

Application of the technique of Giacomini in fruits

ABSTRACT

Carpotecs are scientific collections which object is to register the diversity of fruits within a region. Usually this fruits are preserved in glass jars containing alcohol which leads to depigmentation and to decrease of its durability during manipulation. The glycerin technique its used by several research institutes as a conservation technique for preserving animal anatomical pieces which gives them characteristics such as color, flexibility, and tissue consistency such as the live tissue. In order to search for a new preservation method for the carpotec fruits that enlarges its durability and preserve its original characteristics, the objective of this research was to adapt the Giacomini technique into vegetal tissue. The best fixative found was the glycerin formaldehyde which has antimicrobial action inhibiting fruit decomposition. However it is necessary to perform new experiment of repetitions to determine the time needed on every stage in order to create a proper glycerin technique for vegetal tissue.

Key words: Scientific collection. Vegetal tissue. Glycerin. Fruit preservation.

Introdução

Quando falamos de biodiversidade, nos referimos ao tipo de vida existente no planeta, fauna, flora e genética. Com o objetivo de ter registrada parte dessa biodiversidade, foram criadas as coleções científicas. Essas podem ser botânicas, zoológicas e microbiológicas. As coleções permitem o registro de materiais e dados relacionados a biodiversidade, construindo um banco de dados de pesquisa (PEIXOTO; MORIM, 2003).

As coleções estão organizadas em curadorias, administradas por um pesquisador ou tecnologista. Os exemplares e amostras que compõem os acervos, respectivos a cada uma das coleções, são reunidos por pesquisadores em trabalhos de teses e dissertações realizadas, de forma contínua.

Para conservar esses exemplares são utilizados dois tipos principais de técnicas, meio a seco ou em meio líquido, com imersão do material em substância conservante. Tanto coleções botânicas quanto zoológicas utilizam meios secos e meios líquidos para conservar materiais biológicos. A escolha depende das características do material a ser preservado (SOUSA et al. 2007). Na via seca, o material é posto para secar e armazenado em recipiente ou local que garanta a sua preservação definitiva. Esse processo é utilizado em materiais de difícil decomposição.

Para materiais de origem vegetal partes das plantas incluindo flores e frutos podem ser conservados em meio seco, como no caso dos herbários que conservam exsiccatas, ou coleções como as xilotecas e carpotecas. Para material zoológico, a taxidermia é o modo de conservação de peles de animais mortos permitindo diversas pesquisas, como a origem evolutiva da biodiversidade (TADDEI *et al*, 1999).

Na conservação realizada em meio líquido pode-se utilizar álcool, formol ou glicerina. O álcool 70% é utilizado na preservação de pequenos vertebrados como morcegos, répteis, anfíbios e a maioria dos invertebrados (Papavero, 1994) e para frutos carnosos. O formol em concentrações de 4% ou 10% é utilizado para conservar tanto esses materiais citados quanto peças ou cadáveres maiores. Porém essas duas substâncias apresentam desvantagens quanto ao uso.

A desvantagem da utilização da técnica de preservação em álcool, é que depois de certo tempo há uma despigmentação das peças. Por ser uma substância volátil gera custos financeiros e demanda pessoal para reposição do mesmo nos recipientes de conservação. Já o formol além da causar despigmentação do material deixa as peças mais pesadas. É uma substância inflamável, causa irritabilidade e mesmo câncer no manipulador (KIMURA; CARVALHO, 2010).

As técnicas que utilizam álcool ou formol para a conservação de tecido animal, começaram a ser substituídas por meios em glicerina. Segundo Gigek *et al.*(2009) nas coleções zoológicas são encontrados exemplares de animais conservados através da técnica de glicerinação ou Técnica de Giacomini. O autor aponta como vantagens dessa técnica a conservação de peças anatômicas e cadáveres de animais mantendo as características morfológicas o mais semelhante possível daquelas encontradas em animais vivos (coloração, consistência dos tecidos e flexibilidade).

O armazenamento inadequado de resíduos químicos pode gerar diversos danos aos laboratórios de pesquisa. Segundo o Instituto de Química de São Paulo – USP, dados estatísticos provam que a maioria dos acidentes em laboratório ocorrem pela imperícia, negligência e até imprudência dos técnicos. Esse armazenamento incorreto pode ocasionar incêndios, explosões, emissão de gases tóxicos, vapores, póis e radiações ou combinações variadas desses efeitos. Foi o que ocorreu no Instituto Butantan em São Paulo no ano de 2010, que destruiu o maior acervo de cobras, aranhas e escorpiões para pesquisa do mundo devido à imperícia e negligência de alguns funcionários armazenando materiais inflamáveis perto de fontes de energia elétrica. Os exemplares estavam empalhados e conservados em vidros com formol.

De acordo com Peixoto e Morim (2003), coleções botânicas são bancos de exemplares vivos ou preservados onde se registra dados e informações a cerca dos mesmos. Jardins botânicos e bancos de germoplasma são exemplos de coleções vivas.

Os herbários são coleções preservadas que reúnem informações sobre diversos tipos de plantas em forma de exsicatas. Nelas contém o nome científico da

espécie e popular da espécie, local de coleta e descrição da região bem como coordenadas de localização. As carpotecas são coleções botânicas com finalidade de registrar a biodiversidade de frutos de determinada região.

Neste trabalho a Técnica de Giacomini foi utilizada na conservação de frutos carnosos, a fim de manter suas características morfológicas semelhantes ao original, obtendo uma melhor forma de manipulação e aumentando a vida útil dos exemplares. O objetivo deste trabalho foi então testar diferentes fixadores para preparar os frutos para a glicerinação, a partir de adaptação às técnicas utilizadas na preservação de características morfológicas e anatômicas utilizadas para cadáveres de animais, em tecidos vegetais para uma melhor manutenção das coleções em carpotecas.

Metodologia

Nessa pesquisa foram utilizados frutos carnosos de origem comercial (banana (*Musa sp.*), morango (*Fragaria sp.*), maçã (*Malus sp.*), goiaba (*Psidium guajava*), abacate (*Persea sp.*), kiwi (*Actinidia deliciosa*), ameixa (*Prunus sp.*), laranja (*Citrus sp.*), carambola (*Averrhoa carambola*), tomate (*Solanum sp.*), atemoia (*Annona atemoya*)). A escolha desses frutos foi feita de acordo com o tipo de exocarpo, coloração, acidez de modo a representar uma parcela da variedade de características e colorações que encontramos também em frutos de plantas nativas.

A técnica de Giacomini é composta por três etapas: desidratação, clareamento e fixação. Neste trabalho, a técnica sofreu algumas modificações para adaptação ao tecido vegetal, sendo descartada a etapa de clareamento, por ser necessário manter a coloração original do fruto. A desidratação consiste na imersão da peça em uma concentração de álcool etílico, para a retirada a água de dentro das peças. Na fixação, as peças são conservadas em solução de glicerina 98% e álcool etílico 100%, o que proporciona um aspecto de plasticidade e resistência ao material, entretanto essas concentrações também foram adaptadas testando-se soluções de formol, alcoólicas e salinas.

Antes do processo de lavagem, os frutos foram escolhidos aleatoriamente e separados em grupos para o tratamento com seis fixadores distintos. Durante o processo de lavagem, os frutos foram divididos em dois grupos de preparação para

o teste com a técnica: os que foram lavados com detergente e os sem detergente na tentativa de retirar a camada de cera da superfície do exocarpo, facilitando a infiltração do fixador. Alguns frutos desses dois grupos foram selecionados para passar pelo processo de fixação em estufa por 24 horas. Após esse período, os frutos que passaram pela estufa, foram imersos somente em glicerina.

Cada fruto sofreu incisões para uma melhor penetração dos fixadores. Foram preparadas seis soluções para fazer a imersão dos frutos (desidratados e hidratados), sendo elas: formol 4% (80 ml) + glicerina (20 ml); Álcool 96%; Álcool 70%; Álcool glicerinado; NaCl 10%; Formol 4%, todos em temperatura ambiente. Os seis grupos foram selecionados de forma aleatória. Houve o registro da consistência e coloração dos frutos, observados em cada uma das concentrações citadas. Finalizando a técnica, todos os frutos foram imersos em glicerina durante um ano, a fim de verificar se a mesma seria um meio adequado para a conservação do tecido vegetal, tal qual ocorre com as peças anatômicas de animais que utilizam essa técnica.

Após cada uma das etapas desse processo os frutos foram pesados em uma balança de precisão, tendo sua massa registrada. O efeito na textura e coloração dos frutos foi classificado qualitativamente da seguinte forma: 0 = frutos sem alteração; 1 = frutos com pouca alteração; 2 = frutos com alteração média e 3 = frutos com muita alteração; “ - ” = ausência de fruto na solução; determinando qual fixador possui melhor efeito em cada fruto.

Resultados

Durante o processo de imersão dos frutos nas concentrações de fixadores, pôde-se observar que na solução de formol 4% (80ml) + glicerina (20ml) os frutos apresentaram pigmentação pouco diferenciada do original. A laranja foi o fruto que menos sofreu alterações nas características como consistência e coloração (Figura 1). A ameixa também sofreu poucas alterações. Frutos que apresentam naturalmente escurecimento por oxidação quando cortados, como abacate, a banana e a maçã, sofreram alteração em coloração e consistência na maioria dos fixadores utilizados. A mudança na característica coloração do abacate, da laranja,

da ameixa e da goiaba foram menores nesse fixador. Entre os fixadores testados, o formol glicerinado foi o mais próximo ao original.

Alguns frutos apresentaram alteração na coloração (Tabela 1), endurecimento e em alguns casos apodrecimento interno a partir da região de incisão. Essas características foram mais evidentes nas soluções de álcool e salina.

A solução de álcool 96% apresentou alterações significativas na consistência, tornando os frutos endurecidos e desidratados com a coloração diferente da original. Frutos como a banana e o abacate apresentaram apodrecimento a partir da região da incisão. O tomate em pedaço apresentou uma coloração vermelha próxima ao original, entretanto desidratou consideravelmente.

A solução de álcool 70% apresentou resultado semelhante ao encontrado na anterior, onde a maçã e o abacate também apresentaram apodrecimento nas regiões de incisão. Nesta solução, durante as primeiras semanas de imersão o kiwi apresentou eliminação de gás pela incisão.

Tabela 1: Efeito de cada solução na coloração e consistência dos frutos, onde 1 = frutos com pouca alteração; 2 = frutos com alteração média; 3 = frutos com muita alteração; - = ausência do fruto na solução; CN = consistência e CR = coloração.

Frutos	Formol e Glicerina		Álcool 96%		Álcool 70%		Álcool Glicerina		NaCl 10%		Formol 4%	
	CN	CR	CN	CR	CN	CR	CN	CR	CN	CR	CN	CR
Abacate	3	2	3	3	3	3	-	-	2	3	2	3
Ameixa	1	1	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-
Atemoia	-	-	-	-	-	-	3	3	3	2	-	-
Banana	1	2	3	3	2	3	-	-	3	3	2	2
Carambola	2	2	-	-	3	2	-	-	2	2	-	-
Goiaba	2	2	-	-	3	3	-	-	-	-	-	-
Kiwi	-	-	-	-	3	2	-	-	2	3	-	-
Laranja	1	1	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-
Maçã	2	2	3	2	3	3	-	-	2	3	2	2
Morango	1	3	-	-	2	3	-	-	2	3	1	2
Tomate	-	-	3	2	-	-	-	-	2	2	1	2



Fonte: Amanda Rigaud.

Figura 1: Laranja em resultado a solução de formol glicerinado.

A solução de álcool glicerinado foi armazenada em um recipiente plástico aberto, o fruto armazenado – atemoia - perdeu sua pigmentação original, apresentou apodrecimento e endureceu. A solução de NaCl 10% apresentou apodrecimento da maçã (Figura 2) e do abacate na região da incisão e desidratação dos frutos. O formol 4% apresentou melhor conservação na consistência dos frutos e preservação da coloração vermelha do tomate.



Fonte: Amanda Rigaud.

Figura 2: Desidratação e apodrecimento de fruto a partir da região de incisão.

A lavagem dos frutos com e sem detergente não demonstrou diferenças significativas nos resultados. Os dois grupos que passaram pelo processo de desidratação na estufa, perderam consideravelmente as características morfológicas dos frutos.

Discussão

Após observar o resultado dos fixadores nos diversos grupos de frutos, os que apresentaram os melhores resultados foram o formol + glicerina e o formol 4%, por apresentarem uma classificação com pouca e média alteração dos frutos. De acordo com Cruz (2010), o fixador é importante por ser capaz de manter a integridade do tecido após a morte, evitando alterações químicas na estrutura celular e inibindo a ação de fungos e bactérias, o que permite um estudo daquele tecido com características próximas das observadas in vivo. Os frutos não apresentaram apodrecimento, portanto, nenhuma contaminação por fungos ou bactérias, o que está de acordo com o apontado por autores como Corrêa (2003); Sant'Ana *et al* (2007) e Krug *et al* (2011), que o formol e a glicerina tem ação antimicrobiana eficiente inibindo o processo de decomposição dos frutos.

As soluções de etílicas na qual os frutos apresentaram apodrecimento indicaram que o tempo utilizado de imersão em álcool nesse experimento não foi suficiente para evitar o ataque de microrganismos decompositores. No entanto por alterar a estrutura física das células, removendo água dos tecidos (Junqueira e Carneiro, 1999) e por extrair pigmentos de alguns frutos, uma exposição maior acarretaria em alterações na coloração e na forma dos frutos, justamente o que se tenta reduzir com a utilização da conservação em glicerina. Portanto sendo esse um fixador considerado ineficiente em relação aos objetivos. O tempo de fixação vai depender da temperatura a qual o fixador foi exposto, aumentando a velocidade de penetração no tecido. No caso do formol, para uma fixação mais rápida deve se aquecer a solução, porém em temperatura ambiente, o formol leva menos de 12 horas para penetrar o tecido. A presença da glicerina nas peças facilita o manuseio, por exemplo, quando comparadas às peças formolizadas, possuindo menos odor, sendo mais leve pelo não acúmulo de líquido dentro da peça, o que pode ser muito importante para peças pequenas e o escurecimento reduzido das peças (SILVA *et al.*, 2007).

Os frutos que foram desidratados utilizando-se a estufa, após o período de exposição foram imersos em glicerina, porém desidrataram e escureceram. A ausência de um fixador químico pode ter conduzido a esse resultado. Portanto a

fixação por simples desidratação antes da glicerinação não atendeu ao desejado para aplicação da glicerinação.

Portanto o processo de glicerinação se mostrou eficiente obtendo resultados morfológicos quando utilizado como fixador o formol glicerinado. As outras soluções de fixadores apresentaram resultados indesejáveis tais como perda das características morfológicas mais importantes: coloração, textura e densidade. Com tais alterações, os exemplares perderam sua qualidade para uso como material didático-pedagógico.

Considerações Finais

Dentre os testes realizados com diferentes fixadores, a solução de formol glicerinado demonstrou ser mais satisfatória, pois foi a que menos provocou alterações nas características de coloração e consistência dos frutos, principalmente os de alta oxidação.

No entanto, torna-se necessário que sejam realizadas outras repetições com o intuito de se cronometrar o tempo exato de cada etapa no procedimento. Utilizando a mesma quantidade e os mesmos frutos em cada um dos fixadores buscando por um método de glicerinação adequado para este tipo de tecido, em vista que a técnica de giacomini é aplicada geralmente para tecido animal, sendo um método em fase de teste para a conservação de tecido vegetal. Esta é uma técnica promissora que visa melhorar tanto a qualidade de manipulação do fruto quanto a sua vida útil em laboratório, apresentando-se como a mais adequada para fins didático-pedagógicos.

Referências Bibliográficas

CORRÊA, W. R. Isolamento e identificação de fungos filamentosos encontrados em peças anatômicas conservadas em solução de formol a 10%. 2003. 59 f. Tese (Mestrado) – Universidade do Vale do Paraíba.

CRUZ, V. S.; ARAÚJO, E. G. Técnicas de fixação e conservação de peças anatômicas destinadas ao estudo e à pesquisa: revisão da literatura. 2010. 28 f. Dissertação (Pós-graduação) – Universidade Federal de Goiás.

GIGEK, T.; NETO, A. C. A.; OLIVEIRA, J. E. M.; CARVALHO, W. L.; PEREIRA, F. V. Estudo analítico da técnica de glicerinação empregada para a conservação de peças anatômicas de bovinos. In: Simpósio de ciências da UNESP, 5., 2009, Dracena.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 9.ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koorgan, 1999. 427p.

KIMURA, A. K.; CARVALHO, W. L. Estudo da relação custo X benefício no emprego da técnica de glicerinação em comparação com a utilização da conservação por formol. 2010. 20 f. Dissertação (TCC) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

KRUG, L.; PAPPEN, F. G.; ZIMMERMANN, F. C.; DEZEN, D.; RAUBER, L. P.; SEMMELMANN, C.; ROMAN, L. I.; BARRETA, M. H. Conservação de peças anatômicas com glicerina loira. In: Mostra de Iniciação Científica da IFC, 1., 2011, Santa Catarina.

INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia: *As coleções e acervos científicos do INPA*. Disponível em: < <http://www.inpa.gov.br/colecoes/colecoes2.php>>. Acesso em: 19 jun. 2011.

Instituto de Química da Universidade de São Paulo – *Manual de Segurança*. Disponível em: < <http://www2.iq.usp.br/cipa/manual/manualinteiro.pdf>>. Acesso em: 29 set. 2011.

PAPAVERO, N. Fundamentos práticos de taxonomia zoológica. São Paulo: Editora UNESP, 1994. 32-35p.

PEIXOTO, A. L.; MORIM, M. P. Coleções botânicas: documentação da biodiversidade brasileira. *Ciência e Cultura*, 55(3): 21-24, 2003.

SANT'ANA, A. P. F.; DIAS, I. C. G.; SADDI, L. G. C.; ZANI, F. L.; OLIVEIRA, F. S. Utilização do formaldeído, em diferentes concentrações, associado ou não ao cloreto de sódio, na conservação de tecidos de ovinos. 2007.

SILVA, E. M.; DIAS, G.; TAVARES, M.; MARQUES, T.; FURTADO, J. M. Estudo analítico da técnica de glicerinação empregada para a conservação de peças anatômicas – Experiência da disciplina de anatomia humana do departamento de morfologia do UniFOA. *Cadernos UniFOA*, 3, 2007.

SOUSA, R. C.; ESTEVES, R.; PASTORE, J. A. Carpoteca do Herbários D. Bento Pickel: organização e incremento. *IF Sérq. Reg.*, 31: 159-162, 2007.

TADDEI, V. A.; MARTINS, U. R.; VIVO, M.; PERCEQUILLO, A. R. O acervo das coleções zoológicas do estado de São Paulo. In: MUSEUS E COLEÇÕES ZOOLOGICAS, São Paulo, 1999. *Resumos*. São Paulo: Museus e coleções zoológicas, 1999. p. 50.